

Aus der Infektionsabteilung (Leiter: Prof.Dr.M.Alexander)
der Med. Klinik der Freien Universität Berlin im Klinikum
Westend (Direktor: Prof. Dr. G.A. Neuhaus)

und dem

Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes(Direktor:
Prof.Dr.Raettig) Laboratoriumsgruppe Med. Parasitologie
(Leiter: Dr. H.Werner)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER ÄNDERUNGEN DES TITERS
IM SABIN-FELDMAN-TEST BEI LATENT TOXO-
PLASMAINFIZIERTEN MÄUSEN NACH EXPERIMENTELLER
ERZEUGUNG VON TUMOREN.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ronald Pein
aus Berlin

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Infektionsabteilung (Leiter: Prof.Dr.M.Alexander)
der Med. Klinik der Freien Universität Berlin im Klinikum
Westend (Direktor: Prof. Dr. G.A. Neuhaus)

und dem

Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes(Direktor:
Prof.Dr.Raettig) Laboratoriumsgruppe Med. Parasitologie
(Leiter: Dr. H.Werner)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER ÄNDERUNGEN DES TITERS
IM SABIN-FELDMAN-TEST BEI LATENT TOXO-
PLASMAINFIZIERTEN MÄUSEN NACH EXPERIMENTELLER
ERZEUGUNG VON TUMOREN.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ronald Pein

aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Meta A l e x a n d e r

Korreferent: Professor Dr. med. Hansjürgen R a e t t i g



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 1. Juni 1972

D i s p o s i t i o n

1.	Problemstellung	Seite 3
2.	Literatur	4
2.1.	Der Sabin-Feldman-Test	4
2.2.	Toxoplasma-Infektion bei malignen Tumoren	5
3.	Eigene Untersuchungen	11
3.1.	Methodik	11
3.1.1.	Methodik der Tierversuche	11
3.1.2.	Methodik der Auswertung	14
3.2.	Ergebnisse	15
3.2.1.	Ergebnisse des Sabin-Feldman-Testes	15
3.2.2.	Vergleich mit Kontrolltieren	16
3.2.3.	Makroskopische Sicherung des Tumors	18
3.2.4.	Histologische Sicherung des Tumors	18
4.	Diskussion und Schlußfolgerung	20
4.1.	Diskussion der eigenen Ergebnisse	20
4.2.	Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen der Literatur	21
4.3.	Diskussion anderer Faktoren als Ursache für die bei Patienten erhöhten SFT - Titer	22
5.	Zusammenfassung	24
6.	Literaturverzeichnis	25

1. Problemstellung

In der 1. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin im Klinikum Westend wurden bei Patienten mit Haemoblastosen und malignen Tumoren vermehrt hohe Toxoplasma-Antikörper-Titer beobachtet. Bei den Obduktionen zeigten sich bei diesen Patienten jedoch keine Zeichen, die für eine florierende Toxoplasma-Infektion oder für eine Toxoplasmose hätten angesehen werden können.

Es fragt sich daher, ob diese Titer-Spiegel durch zufällig gleichzeitigen Ablauf einer Neoplastose und einer Infektion oder durch eine Aktivierung einer latenten Toxoplasma-Infektion durch Malignome hervorgerufen worden sind.

In tierexperimentellen Versuchen an Toxoplasma-infizierten Mäusen, denen in der latenten Infektionsphase ein karzinogener Stoff injiziert wurde, ist versucht worden, diese Frage zu klären.

2. Literatur

2.1. Der Sabin - Feldman - Test

Toxoplasma-Infektionen bewirken die Bildung von spezifischen Antikörpern, die mit einer Reihe von immunologischen Verfahren nachgewiesen werden können. Einer dieser Nachweise ist der Sabin-Feldman-Test (SFT), der darauf beruht, daß sich das Protoplasma von lebenden Toxoplasmen, die zum Beispiel aus dem Ascites intraperitoneal infizierter Mäuse gewonnen werden, in Gegenwart eines Aktivatorserums mit alkalischem Methylenblau intensiv blau anfärbt. Diese Eigenschaft geht den Parasiten verloren, wenn sie vorher mit einem Serum zusammengebracht werden, das neutralisierende Antikörper gegen Toxoplasmen enthält.

An der Spezifität des SFT ist wiederholt gezweifelt worden. Alle bisherigen Untersuchungen zeigten aber, daß Antikörper gegen andere Krankheitserreger nicht mit dem SFT nachgewiesen werden.

Die diagnostische Verwertbarkeit eines einmal festgestellten Toxoplasma-Antikörper-Titers ist begrenzt; er sagt nur aus, daß der Wirtsorganismus auf das Antigen von *Toxoplasma gondii* mit einer Antikörperproduktion geantwortet hat. Für die Diagnose einer Toxoplasmose ist das klinische Bild und der Verlauf der Titerkurve entscheidend.

In der Literatur werden häufig stark schwankende Durchseuchungswerte der Durchschnittsbevölkerung angegeben (Maeder, 1968; Müllenbrock, 1969). Der Hauptgrund ist hierfür sowohl in der abweichenden Methodik beim SFT als auch bei unterschiedlichen Grenztitern zu suchen. Damit ist auch die Beantwortung der Frage erschwert, ob bei malignen Erkrankungen häufiger hohe Toxoplasma-Antikörper-Titer vorkommen, als die Durchseuchungswerte der Normalbevölkerung vermuten lassen.

2.2. Toxoplasma-Infektion bei malignen Tumoren

Vom gleichzeitigen Vorkommen maligner Erkrankungen und hoher Toxoplasma-Antikörpertiter wurde in den letzten Jahren mehrmals berichtet. In der Tabelle 1 sind 33 Krankenberichte zusammengestellt, die eine Kombination von malignen Prozessen mit Toxoplasma-Infektionen aufweisen. Die Diagnose Toxoplasma-Infektion oder Toxoplasmose wurde klinisch und serologisch oder/und pathologisch gesichert; im einzelnen handelt es sich um folgende maligne Erkrankungen:

Lymphoma malignum Hodgkin (11 Berichte), Leukaemie (8 Berichte), Lymphosarkom (4 Berichte), Retikulumzellsarkom (3 Berichte) und andere Malignome (7 Berichte) (s. Tab.1).

A: Toxoplasma-Infektion und Lymphoma malignum Hodgkin

<u>Autor</u>	<u>Serologie</u>	<u>Pathologie und Bemerkung</u>
1. Frenkel (1957)	--	S: Toxoplasma-Enzephalitis
2. Bachmann u.M. (1962)	SFT: 1:4000 KBR: 1:20	Lkn-PE: Lymphogranulomatose
3. Keel u. M. (1963)	SFT: 1:4000 KBR: 1:20	1.Lkn-PE:Lymphadenitis toxoplasmotica; 2.Lkn-PE:Lymphogranulomatose
4. Keel u. M. (1963)	SFT: 1:256000 KBR: neg.	Lkn-PE:keine sichere Toxopl.- Infektion; aber typ.Titerver- lauf;
5. Keel u. M. (1963)	SFT: 1:16000 KBR: 1:160	typischer Titerverlauf
6. Cheever u. M. (1965)	SFT: neg.	S: Toxoplasma-Enzephalitis
7. Casti (1966)	SFT: 1:1000	Lkn-PE: Lymphogranulomatose
8. Goodman u. Mile (1966)	--	S: Toxoplasmen in der Lunge und im Magen
9. Vietzke u. M. (1968)	HAT: 1:64	S: Toxoplasma-Enzephalitis, massive Toxo.-Organmani- festation; CMV-Pneumonie;

<u>Autor</u>	<u>Serologie</u>	<u>Pathologie und Bemerkung</u>
10. Chauvergne u.M. (1969)	SFT: 1:8000	Lkn-PE: Lymphogranulomatose
11. Müllenbrock (1969)	SFT: 1:16000 KBR: 1:100	Lkn-PE: Lymphogranulomatose; unter RÖ-Therapie stiegen die Titer an: SFT: 1:1 Mill., KBR: 1:140;

B: Toxoplasma-Infektion und Leukaemie

a) akute lymphatische Leukaemie

12. Lemaire u. M. (1965)	SFT: 1:2000	- - - -
13. Wertlake u. Winter	---	S: Toxoplasma-Enzephalitis, Myocarditis; CMV-Pneumonie;
14. Vietzke u. M. (1968)	SFT: 1:16000 Liquor: 1:256	PE: Nekrosen im li. Parietale; Toxo.-Tierversuch positiv;
15. Abell u. M. (1969)	FAT: 1:64	S: massive Toxo.-Organmani- festation

b) akute myeloische Leukaemie

16. Bernard u. M. (1962)	---	S: massive Toxo.-Organmani- festation
17. Vietzke u. M. (1968)	SFT: 1:4000	Toxo.-Tierversuch neg., aber typischer Titerverlauf;

c) chronische myeloische Leukaemie

18. Wolf u. M. (1953)	---	S: Toxoplasmen im ZNS
19. Lemaire u. M. (1962)	---	S: Toxoplasma-Enzephalitis

C: Toxoplasma-Infektion und Lymphosarkom

<u>Autor</u>	<u>Serologie</u>	<u>Pathologie und Bemerkung</u>
20. Lelong u.M. (1960)	SFT: 1:2500 KBR: 1:100	PE: Lymphosarkom
21. Keel u. M. (1963)	SFT: 1:1000 KBR: 1:80	S: keine Toxo.-Organmanifestation, aber typ. Titerverlauf;
22. Müllenbrock (1969)	SFT: 1:64000 KBR: 1:40	S: keine Toxo.-Organmanifestation;
23. Cohen (1970)	SFT: 1:1000	S: massive Toxo.-Organmanifestation;

D: Toxoplasma-Infektion und Retikulumzellsarkom

24. Finckh (1954)	---	PE: Toxoplasmen im Knochenmark;
25. Marioni u.Lazzaro (1960)	---	Toxoplasmen im Pleuraexsudat
26. Müllenbrock (1969)	SFT: 1:16000 KBR: 1:10	S: keine Toxo.-Organmanifestation;

E: Toxoplasma-Infektion und andere Malignome

<u>Autor</u>	<u>Malignom</u>	<u>Serologie</u>	<u>Pathologie</u>
27. Grandjean (1956)	Perithelio-Sarkom	SFT:1:6250	Lkn-PE:Lymphadenitis toxoplasmotica
28. Hemsath und Pinkerton (1956)	myel. Metaplasie	---	S:massive Toxo.-Organmanifestation;
29. Wegmann (1963)	Ovarial-Ca.	SFT:1:256000 Liquor:1:64	S: keine Toxo.-Organmanifestation;
30. Ianello u.M. (1966)	Mamma-Ca.	HAT: 1:128	Toxoplasma-Chorioretinitis
31. Theologides u. M.(1966)	Myeloma multiplex	SFT: 1:1000	S: Toxoplasma-Enzephalitis

<u>Autor</u>	<u>Malignom</u>	<u>Serologie</u>	<u>Pathologie</u>
32. Maeder (1968)	Schild- drüsen-Ca.	SFT:1:4000	S: keine Toxo.- Organmanifestation
33. Vietzke u. M. (1968)	Malignes Melanom	---	S: Toxoplasma- Enzephalitis; CMV-Pneumonie;

Tabelle 1: Krankenberichte über gleichzeitiges Vorliegen von Malignomen und Toxoplasma-Infektionen.
(SFT: Sabin-Feldman-Test, KBR: Komplementbindungsreaktion, HAT: Hämagglutinationstest, FAT: Immunofluoreszenztest, S: Sektion, PE: Probeexision, Lkn: Lymphknoten;)

Weiterhin werden ohne genaue Einzelheiten über gleichzeitiges Vorliegen einer Toxoplasma-Infektion und einem Lymphosarkom (Siim,1956), einem Osteosarkom (Lelong u. M.,1960), einer Leukämie (Stacher, 1963) und einem Lymphosarkom (Chitrovo-Goreva, 1964) berichtet.

Umfassende und statistisch auswertbare Untersuchungen über Toxoplasma-Antikörper-Titer liegen ebenfalls vor. In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammengestellt, die Alexander u. M. (1968), Vogel und Lunde (1969) und Schuman u. M. (1967) bei Patienten mit malignen Tumoren fanden. Im Vergleich hierzu, zeigt Tabelle 3 die Durchschnittswerte der Durchschnittsbevölkerung.

Autor u. Jahr	Ort	Zahl der Untersuchten	Prozentzahl d. Positiven	Grenztiter
1. Alexander u. M. (1968)	Berlin	86	41,6 23,7	1: 256 (SFT) 1:1000 "
2. Vogel und Lunde (1969)	USA	240	29,0 8,2	1: 4 (HAT) 1:1458 "
3. Schuman u. M. (1967)	USA	126	11,1	1: 64 (SFT)

Tabelle 2: Toxoplasma-Antikörper-Titer bei Patienten mit malignen Erkrankungen (SFT: Sabin-Feldman-Test, HAT: Hämagglutinationstest).

Autor u. Jahr	Ort	Zahl der Untersuchten	Prozentzahl d. Positiven	Grenztiter
1. Putzmann (1968)	Berlin	850	36,5 9,5	1: 256 (SFT) 1:1000 "
2. Feldman (1962)	USA	2844 (Rekruten)	19,0 0,1	1: 4 (SFT) 1:1000 "
3. Schuman u. M. (1967)	USA	126	7,6	1: 64 (SFT)

Tabelle 3: Toxoplasma-Antikörper-Titer bei der Durchschnittsbevölkerung (Erläuterungen wie Tab. 2).

Die Tabellen belegen, daß Personen mit malignen Erkrankungen häufiger Toxoplasma-Antikörper-Titer aufweisen. Der SFT und der HAT sind dabei nach Piekarski, 1966, grundsätzlich vergleichbar.

Weitere Untersuchungen liegen von Vogel und Lunde (1969) vor. Sie fanden bei 5 von 39 Patienten mit chron. myel. Leukaemie einen HAT-Titer von 1:13000 (13%); Kessel u. M. (1965) hingegen beobachteten bei 5 von 210 gesunden und vergleichbaren Personen einen HAT-Titer von 1:16000 (2,4%).

Hooft u. M. (1962) berichten von 35 an Leukaemie erkrankten Kindern, von denen 16 (45,7 %) einen positiven Titer hatten, 7 (20 %) davon einen Titer über 1:1000 und eine KBR von über 1:10. Vergleichbare Untersuchungen von gesunden Kindern (Hooft u. M., 1962) ergaben nur einen positiven SFT in 8,5 % und einen SFT-Titer über 1:1000 und einer positiven KBR in 15,8 % der Fälle.

Remington und Cavanaugh (1965) stellten bei 109 Sektionen in 4 Fällen Toxoplasmen fest, wobei in 3 von diesen 4 Fällen außerdem ein Malignom vorlag.

Weiterhin berichten Lelong u. M. (1960), daß sie unter 227 Fällen von Toxoplasma-Infektionen dreimal maligne Erkrankungen (Osteosarkom, Lymphosarkom und Lymphogranulomatose) fanden. Lemaire u. M. (1965) erwähnen unter 14 Toxoplasma-Infektionen einen Fall von Leukaemie; Chauvergne u. M. (1969) berichten von einer Lymphogranulomatose unter 36 Toxoplasma-Infektionen.

Alle diese Befunde deuten auf eine Beziehung zwischen einer Toxoplasma-Infektion bzw. einer Toxoplasmose und Malignomen hin.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Methodik

3.1.1. Methodik der Tierversuche

Die Versuche wurden im Robert-Koch-Institut, Laboratoriumsgruppe " Medizinische Parasitologie " (Leiter: Dr. H. Werner) durchgeführt.

1. Versuch:

66 weibliche und 25 männliche Mäuse vom C3H/A/BOM-Stamm mit einem Gewicht von 16 - 20 g wurden von der Gl. Bomholtgard Animal Division, Ry, Dänemark (Direktor: Dr.med.vet. C.W. Friis) gekauft. Die Weibchen dieses Mäusestammes (der Stamm ist eine Weiterzucht vom C3H/He/J-Stamm vom Krebsforschungsinstitut Aarhus) bilden, wenn sie verpaart werden, spontan Mammacarcinome. Die Mammacarcinomrate für den C3H/A/BOM-Stamm liegt etwas niedriger als die des Mäusestammes aus dem Jackson Laboratory, Bar Harbor-Maine, USA, bei dem sich ca. 80 - 90 % spontane Mammacarcinome entwickeln (persönliche Mitteilung von Herrn Dr.C.W. Friis).

Die Infektion der Tiere mit Toxoplasmazysten wurde wie folgt durchgeführt: 5 NMRI-Mäuse waren 8 Wochen vorher mit dem Toxoplasma-Stamm Weiß, der aus Schweinen isoliert worden war, infiziert worden. Diesen Tieren wurden die Gehirne entnommen. Mikroskopisch waren Toxoplasmazysten zu erkennen. Die 5 zystenhaltigen Gehirne wurden in 50 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. In 1 ml dieser Suspension konnten 80 Zysten ausgezählt werden. Durch intraperitoneale Injektion von je 0,5 ml (= 40 Zysten) wurden alle 91 Mäuse infiziert. Da bei der Präparation keine sterilen Bedingungen eingehalten werden konnten, erhielt jede Maus mit der zystenhaltigen Suspension noch ca. 1500 E Penicillin-Streptomycin, um eventuelle Begleitinfektionen weitgehend zu vermeiden.

Etwa 50 bis 60 Tage nach der Infektion sollte ein Bock zu zwei Weibchen in einen Käfig gesetzt werden und bei den Weibchen Blut

abgenommen werden. Weitere Blutentnahmen für den SFT sollten kurz vor dem Wurfstage und einmal weiter wöchentlich über 8 Wochen, dann einmal alle 14 Tage über weitere 8 Wochen erfolgen. Die Böcke waren als Kontrolltiere gedacht.

2. Versuch

100 weibliche SPF-Mäuse (Toxoplasma-frei) vom Stamm NMRI aus der Zentralen Versuchstieranlage des Bundesgesundheitsamtes (Leiter: Prof. Dr. Wellmann) wurden bei einem Gewicht von 16 - 20 g in der schon beschriebenen Technik mit 30-40 Zysten pro Maus i.p. infiziert. Die Tiere wurden in Makrolonkäfigen Typ III in Gruppen von 20 bis 24 gehalten. Als Futter erhielten sie Altromin-Standarddiät und Wasser. Die Tierräume wurden täglich 12 Std. belichtet (3000 Lux), hatten eine Temperatur von 24°C und einen zwanzigfachen Luftwechsel.

11 Wochen nach der Infektion erfolgten bei den noch 61 lebenden Tieren Blutabnahmen. Das Blut wurde durch Abschneiden des Schwanzendes gewonnen und die Wunde durch Hitzeokoagulation verschlossen. Um eine optimale Blutausbeute zu erreichen, kamen die Tiere zuvor in einen Brutschrank, der auf 53 bis 60°C Innentemperatur eingestellt war. Eine weitere Blutabnahme wurde 18 Wochen nach der Infektion durchgeführt, um eventuelle Titeränderungen in der latenten Infektionsphase feststellen zu können. Wenige Tage danach erfolgte die Injektion des karzinogenen Stoffes, Methylcholanthren, ein Abkömmling des Anthrazens. ^{x)}

45 Tieren wurde je 1 mg Methylcholanthren subcutan in den Nacken injiziert. Die restlichen 16 Tiere dienten als Kontrolltiere. An der Injektionsstelle entstanden nach 5 - 6 Wochen Tumoren. Bei der Injektion des Methylcholanthrens ist folgendes zu beachten:

1. Methylcholanthren ist in Wasser nicht löslich. Es kann aber beispielsweise in der von mir verwendeten Tylose suspendiert werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß das Methylcholan - thren sehr leicht aufrauhmt.

x) Für die Überlassung des Präparates danke ich Herrn Dr. Gericke vom Krebslabor der Farbwerke Hoechst.

2. Rund 50 % des applizierten Volumens wird unter der Nacken -
faszie abgesetzt.
3. Um eine gleichmäßige Verteilung der Suspension und damit auch
eine gleichmäßige Dosierung des Präparates bei einer größeren
Tiergruppe zu erhalten, wurden nur zwei Tiere mit einer einmal
aufgezogenen Suspension gespritzt.

Weitere Blutabnahmen nach der Injektion des Methylcholanthrens
erfolgten alle 14 Tage über 8 Wochen. In diesem Zeitraum ver-
starben 12 Tiere: 11 Tumortiere und 1 Kontrolltier. Bei Versuchs-
ende wurden alle Tiere getötet und der Tumor makroskopisch und
histologisch gesichert.

Die gewonnenen Seren wurden eine halbe Stunde bei 56°C inakti-
viert und im SFT auf Toxoplasma-Antikörper untersucht. Bei der
Durchführung des Testes hielt ich mich an die Empfehlungen der
Beratenden Kommission des Bundesgesundheitsamtes zur einheit-
lichen Laboratoriumsdiagnostik der Toxoplasmose (veröffentlicht
in: Bundesgesundheitsblatt S. 354-357(1966). Positive und nega-
tive Kontrollseren gewährleisteten die Vergleichbarkeit der Er-
gebnisse.

3.1.2. Methodik der Auswertung

Der Auswertung des 2. Versuches lagen die Ergebnisse des SFT zugrunde. Es wurde versucht, sowohl die Titer der Kontrolltiere als auch die der Tumortiere im zeitlichen Ablauf und in bezug auf Titterschwankungen graphisch darzustellen und statistisch zu vergleichen. Die graphischen Darstellungen sind Verteilungskurven, die die Ergebnisse widerspiegeln. Statistisch haben die Kurven wegen der geringen Tieranzahl keine allzu große Aussagekraft.

Um zu beantworten, ob eine Korrelation zwischen den Titern der Tumortiere und den der Kontrolltiere besteht, wurde der Phi-Koeffizient der Vierfelder-Korrelation berechnet. Bis zu Werten für $\Phi \geq 3$ ist statistisch eine Korrelation gegeben. Ist $\Phi = 0$, dann besteht kein Unterschied zwischen den Titern (vergl. z. B. Weber, 1956).

Für die rechnerische Beurteilung war es aus praktischen Gründen notwendig, die verschiedenen Titer der Tiere eines jeden einzelnen Tests in 2 Gruppen zusammenzufassen.

Die Titer der Tiere eines Testtages wurden nach folgendem Schema verglichen:

Gewählter Grenztiter	< 4000	> 4000
Kontrolltiere	a	b
Tumortiere	c	d

Die Bezeichnungen a,b,c,d stehen für die Anzahl der Tiere, deren Titer bei diesem Test kleiner bzw. größer als 4000 waren. Der Korrelationskoeffizient Phi wird nach folgender Formel errechnet:

$$\Phi = \frac{ad - bc}{\sqrt{(a+c)(b+d)(a+b)(c+d)}} .$$

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Sabin-Feldman-Test

1. Versuchsserie:

Alle C3H/A/BOM - Mäuse verstarben innerhalb von 1 bis 4 Wochen post infectionem aufgrund der Toxoplasma-Infektion.

2. Versuchsserie:

Die in der zweiten Versuchsreihe im Zeitraum von 4 Monaten an 61 Tieren durchgeführten 292 Sabin-Feldman-Teste zeigten folgende Ergebnisse: zu Versuchsbeginn, d.h. 11 Wochen p. inf., lagen die Titer zwischen 1:4000 und 1:256000; gegen Ende des Versuchs, 27 Wochen p.inf., waren sie auf Werte von 1:256 bis 1:16000 abgefallen. Im einzelnen zeigt sich folgendes Bild:

<u>45 mit Methylcholanthren</u> <u>behandelte Tiere</u>	<u>SFT - Titer 1:</u>				
	256	1000	4000	16000	64000 256000
1. Test(80 Tg.p.inf.)			2	12	22 4
2. " (130 " ")			6	15	15 1
3. " (144 " " = 12.Tg.p.inj.)			18	15	1
4. " (158 " " = 26. " ")		9	23	1	
5. " (172 " " = 40. " ")		7	21	3	
6. " (186 " " = 54. " ")	1	8	17	7	

Tabelle 4: SFT-Titer von Mäusen, denen im Verlauf der latenten Toxoplasma-Infektion das tumorerzeugende Methylcholanthren injiziert worden war.

<u>16 Kontrolltiere</u>	<u>SFT - Titer 1:</u>				
	256	1000	4000	16000	64000 256000
1. Test(80 Tg.p.inf.)			3	5	7 1
2. " (130 " ")			4	9	2
3. " (144 " ")			7	9	
4. " (158 " ")			5	10	
5. " (172 " ")	1	2	7	2	
6. " (186 " ")	1	4	5		

Tabelle 5: SFT-Titer von Mäusen, die nur mit Toxoplasmen infiziert worden waren und als Kontrollen dienten.

3.2.2. Vergleich mit Kontrolltieren

Folgende graphische Darstellungen zeigen die Titerverteilung in Abhängigkeit zur Anzahl der Tiere.

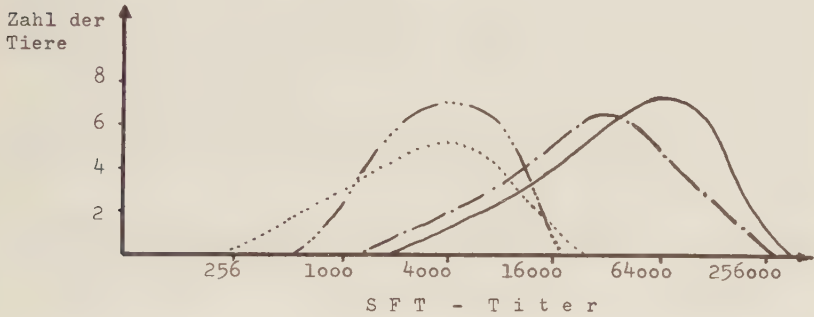


Abb.1: Titerverteilung der mit Toxoplasmen infizierten Methylcholanthren-Tumormäuse (Zeichenerklärung s. Abb.2).

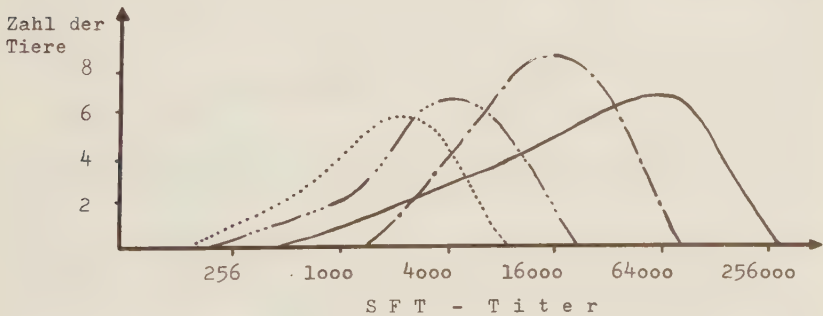


Abb.2: Titerverteilung der mit Toxoplasmen infizierten Kontrolltiere; Zeichenerklärung:

1. Test: ——— (80 Tg.p.inf.)
2. Test: - - - - (130 " ")
5. Test: - · - · (172 " " = 40 Tg.p.inj.)
6. Test: - - - - (186 " " = 54 " ")

Aus den Versuchen, deren Ergebnisse in den Tabellen 4 und 5 und in den graphischen Darstellungen (Abb. 1 und 2) zusammengefaßt sind, läßt sich ersehen, daß die Titer aller Mäuse zu Versuchsbeginn, d.h. 11 Wochen nach der Toxoplasma-Infektion, zwischen 1:4000 und 1:256000 lagen. Mit fortschreitender Versuchsdauer fielen die Titer unabhängig davon, ob die Mäuse zusätzlich mit Methylcholanthren behandelt worden waren oder nicht, gleichmäßig auf Werte zwischen 1:256 und 1:16000 ab. Um hierfür ein in Zahlen ausdrückbares Maß zwischen der Antikörper-Titerverlaufskurve der Tumortiere und die der Kontrolltiere angeben zu können, wurde der Phi-Koeffizient der Vierfelder-Korrelation berechnet. Nach dem Schema auf Seite 14 ergeben sich für die einzelnen Tests folgende Ergebnisse:

1. Test	<16000	>16000	2. Test	<16000	>16000
Kontrolltiere	8	8	Kontrolltiere	13	2
"Tumortiere"	6	8	"Tumortiere"	7	5
	Phi= +0,071			Phi= +0,321	
3. Test	<4000	>4000	4. Test	<4000	>4000
Kontrolltiere	7	9	Kontrolltiere	5	10
Tumortiere	6	5	Tumortiere	11	1
	Phi= -0,106			Phi= -0,589	
5. Test	<1000	>1000	6. Test	<1000	>1000
Kontrolltiere	2	8	Kontrolltiere	5	5
Tumortiere	3	9	Tumortiere	3	8
	Phi= -0,059			Phi= +0,233	

Tabelle 6: Vierfelder-Korrelation zwischen Toxoplasma-infizierten Tumortieren und Toxoplasma-infizierten Kontrolltieren

Die Werte für den Phi-Koeffizienten schwanken zwischen +0,32 und -0,59. Damit ist der Nachweis erbracht, daß zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied besteht.

In der Abb.1 und der Tabelle 6 sind die Testergebnisse von 11 Tieren, die mit Methylcholanthren behandelt wurden, bei denen jedoch kein Tumorwachstum nachgewiesen werden konnte, nicht berücksichtigt worden.

Durch Methylcholanthren induzierte Tumoren führen hiernach bei latent Toxoplasma-infizierten Mäusen nicht zu Titererhöhungen im SFT.

3.2.3. Makroskopische Sicherung des Tumors

Bereits 4 Wochen nach der Methylcholanthreninjektion hatte sich bei 18 von 45 Tieren an der Injektionsstelle ein palpabler Tumor von ca. Kirschkergröße entwickelt (s. Abb. 3). Weder der Tumor selbst noch die darüber liegende Haut ließen sich verschieben. Nach weiteren 4 Wochen konnten bei 26 Tieren im Nackenbereich Tumoren palpiert werden, die teilweise Bohnengröße erreichten. Bis zum Versuchsende verstarben 11 Tiere; die restlichen 34 wurden getötet.

Dabei zeigten 14 Tiere bohngroße Tumoren von gelblich - weißer Farbe und weicher Konsistenz. Bei weiteren 9 Tieren befanden sich an der Injektionsstelle nur noch schmutzige, blaßgraue nekrotische Gewebsbezirke, die teilweise mit der darüberliegenden Haut und mit dem umgebenden Gewebe verwachsen waren.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß von 45 mit Methylcholanthren behandelten Tieren vorzeitig 11 (24%) verstarben; am Versuchsende konnte bei 23 von den verbleibenden 34 Tieren (68%) ein Tumorstadium nachgewiesen werden. Bei 11 von 34 Tieren konnte kein Tumor gesichert werden.

3.2.4. Histologische Sicherung des Tumors

Einige Tumoren wurden in Alkohol fixiert und entwässert und in einer Stärke von 5 μ im Paraffinblock geschnitten. Die Färbung erfolgte mit Hämatoxylin-Eosin. Schon bei einer mittleren Vergrößerung (s. Abb. 4) findet man ein zellreiches und faserarmes Gewebe, das teils infiltrierend, teils verdrängend in das umliegende Bindegewebe einwächst. Deutlich ist noch eine Kollagenbildung zu erkennen. Bei stärkerer Vergrößerung sieht man längsovale bis spindelige Zellkerne, die regelrecht erscheinen. Das Protoplasma ist länglich ausgezogen. Vereinzelt lassen sich Polymorphie, Hyperchromasie und Mitosen erkennen. Auffallend sind weite nekrotische Gewebsbezirke mit zum Teil starker Demarkation. Die Histologie des Tumors, ein Fibrosarkom, wurde von Herrn Prof. Becker, Direktor des Path. Inst. der Universitätsklinik Westend bestätigt.



Abb.3: Freipräpariertes Fibrosarkom am rechten Hautlappen im Nackenbereich in situ mit gelblich-weißer Farbe und weicher Konsistenz, am 58. Tag nach Injektion von Methylcholanthren.

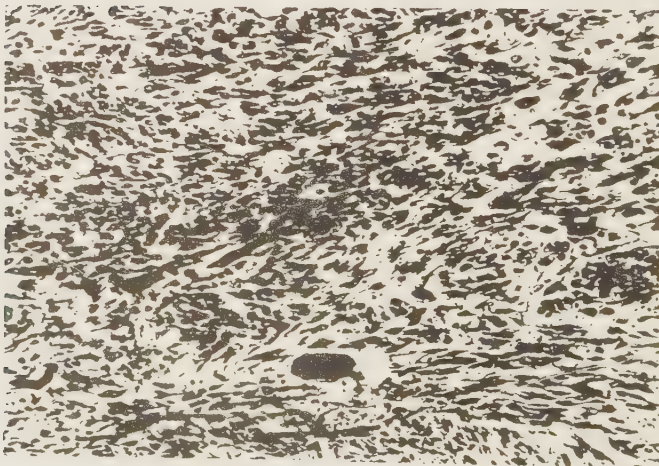


Abb.4: Fibrosarkom; Fbg. HE, Vergr. 120x.

4. Diskussion und Schlußfolgerung

4.1. Diskussion der eigenen Ergebnisse

1. Versuchsreihe:

Alle Tiere dieser Versuchsserie waren an der Toxoplasma-Infektion innerhalb von 1 bis 4 Wochen gestorben. Dieser Mißerfolg war überraschend, da der Toxoplasma - Stamm Weiß in der verwendeten Dosierung bei der NMRI - Maus eine reproduzierbare Mortalitäts - rate von unter 1 % aufweist.

In der Literatur findet sich nichts über die Empfindlichkeit des C3H/A/BOM - Mäusestammes gegenüber Toxoplasmen. Bekannt ist aber, daß hinsichtlich der Virulenz eines Toxoplasma Stammes Unterschiede bei verschiedenen Mäusestämmen bestehen (Janitschke, persönliche Mitteilung).

2. Versuchsreihe:

Bei insgesamt 293 durchgeführten Sabin-Feldman-Testen ließen sich nach dem beschriebenen Versuchsansatz zwischen beiden Tiergruppen, den Toxoplasma-infizierten Kontrolltieren und Toxoplasma-infi - zierten Tumortieren, aufgrund statistischer Auswertung keine sig - nifikanten Titerunterschiede feststellen.

Eine gewisse Einschränkung erhalten die Ergebnisse dadurch, daß künstlich mit Methylcholanthren Tumoren erzeugt wurden. Die Ver - hältnisse bei spontan gebildeten Neoplastosen könnten pathophy - siologisch andere Verhältnisse schaffen. Diese Frage sollte in weiteren Arbeiten untersucht werden.

Eine weitere vorsichtige Beurteilung der Ergebnisse erscheint an - gebracht, da die Anzahl der Tiere, die Tumoren ausbildeten (23) nicht sehr groß war.

4.2. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen der Literatur

Vergleicht man die Titerverlaufskurven der Tumortiere und der Kontrolltiere mit der, die Werner und Pichl (1969) bei NMRI-Mäusen gewannen, so ist ein annähernd paralleler Verlauf festzustellen. Der Unterschied in den Titern läßt sich durch eine andere Toxoplasma-Dosierung begründen.

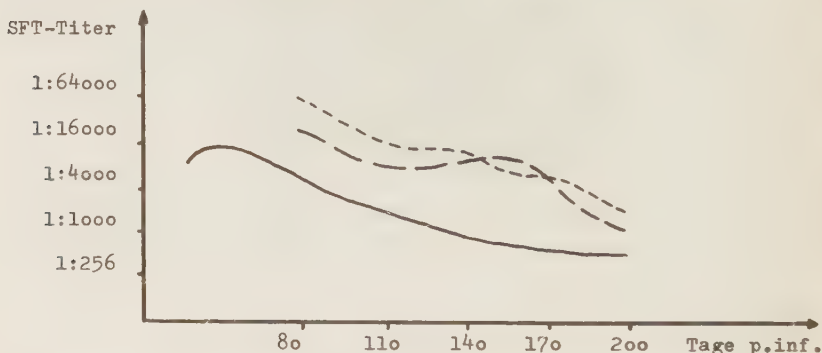


Abb. 5: Erläuterungen siehe Text; Zeichenerklärung: Tumortiere ----, Kontrolltiere ———, Vergleichskurve ———;

Damit erhalten die hier dargestellten Ergebnisse eine Bestätigung. Die gewonnenen Befunde stimmen auch mit denen anderer Autoren überein. So fanden Jelen (s.Lit.verz.), Maeder (1968) und Müllenbrock (1969) in ihren tierexperimentellen Arbeiten keinen Anhalt dafür, daß bei toxoplasmafreien Mäusen, die mit malignen Tumorzellen beimpft wurden oder spontan einen Tumor erzeugten, eine unspezifische Titererhöhung im SFT hervorgerufen wird.

Matthes (s.Lit.verz.) beimpfte Toxoplasma-infizierte Mäuse mit Leukoseviren und beobachtete dabei ebenfalls keine Änderung der Toxoplasma-Antikörper-Titer.

Vergleicht man nicht nur die Antikörper-Titer, sondern auch die Entwicklung von Toxoplasmen in Tumormäusen oder Tumorzellkulturen, so läßt sich feststellen, daß die Toxoplasmen etwa im gleichen Verhältnis in die Tumorzellen wie auch in die nicht tumoralen Zellen eindringen. Auch im Wachstum und in der Entwicklung bestehen keine Unterschiede (Pizzi, 1963; Ardoin, 1967; Zaman, 1968; Vermeil, 1970).

4.3. Diskussion anderer Faktoren als Ursache für die bei Patienten erhöhten Sabin-Feldman-Test-Titer

Die Zahl der bisher in der Literatur veröffentlichten Fälle über ein gleichzeitiges Vorliegen von neoplastischen Veränderungen und hohen Toxoplasma-Antikörper-Titern (Tabelle 1), ist sicherlich zu gering, um eine klare Aussage treffen zu können. Sie ist aber zu hoch, um den Verdacht eines bestehenden Zusammenhanges fallen zu lassen. Einige mögliche Begründungen dafür sollen hier diskutiert werden.

Bei einer latenten Toxoplasma-Infektion hat sich ein Gleichgewicht zwischen den Parasiten und der Abwehrlage des Wirtes eingespield, das u.a. in mittleren und niedrigen, gleichbleibenden SFT-Titern zum Ausdruck kommt. Dieses Gleichgewicht könnte durch verschiedene Vorgänge (chron. Erkrankungen, Behandlung mit Kortikosteroiden und Immunsuppressiva, Schwangerschaft) gestört werden, was zu einer Reaktivierung der latenten Infektion führt.

Ganz allgemein kann aber auch die Resistenz gegenüber verschiedenen Infektionen herabgesetzt werden. Das trifft sicherlich zu bei Hämoplastosen mit Befall des RES oder Knochenmarks (Vietzke u.M.,1968).

Besonders auffallend ist der Zusammenhang zwischen Toxoplasma-Infektion und immunsuppressiver Therapie. Bei allen in der Tabelle 1 aufgeführten Fällen, mit Ausnahme von Nr. 9 und 28, ist eine solche Behandlung durchgeführt worden. Kortikoide und Röntgenbestrahlung können zur Reaktivierung der Toxoplasma - Infektion führen (Frenkel,1957). 6-Merkaptopurin, Cortison und Splenektomie sollen für das massive Auftreten von Toxoplasma-zysten im Gehirn ausschlaggebend sein (Stahl u.M.,1966). Wahrscheinlich ist die Ursache nicht humoral. Zirkulierende Antikörper spielen hierbei keine wichtige Rolle (Huld, 1966). Frenkel und Lunde (1966) haben experimentell nachgewiesen, daß die bei chronischen Infektionen gleichzeitig durchgeführten Kortikoid-Behandlungen weder die Antikörperproduktion noch die Antikörpermenge beeinflussen. Vielmehr führen Kortikoide zum Verlust der Immunität der einzelnen Wirtszelle und zur Verminderung der Resistenzfähigkeit.

Auch bei Patienten ohne maligne Krankheiten, die wegen Organtransplantationen Immunsuppressiva erhielten, wurde eine generalisierte Toxoplasmose beobachtet (Reynolds, 1966; Cohen, 1970; persönliche Mitteilung von Remington, 1969;).

Eine weitere Möglichkeit der Erklärung kann erwogen werden. Das infektiöse Agens *Toxoplasma gondii* ist weit verbreitet, was die Infektionsmöglichkeit erhöht (Janitschke, 1971). Vielleicht bereiten die oben angegebenen Faktoren die Grundlage für das Angehen der Infektion durch den Parasiten.

Wichtig ist auch die Frage nach der Art der Antikörper, die in den verschiedenen Infektionsphasen auftreten. Am Beginn einer frischen Infektion erscheinen im Serum 19 S Gammaglobuline, die im weiteren Verlauf durch 7 S Immunglobuline ersetzt werden. Während der latenten Infektionsphase sind dann nur noch diese nachweisbar (Remington u.M., 1966; Strånnegard, 1967; Remington, 1970). Mit dem SFT weist man beide Antikörperfraktionen nach, ohne daß man zwischen ihnen unterscheiden kann. Erst nach Behandlung der Seren mit Merkaptoäthanol werden die 19 S Antikörper zerstört und nur 7 S Antikörper sind im SFT nachweisbar (Staib u. M., 1966, 1969).

Zwei andere Möglichkeiten des differenzierten Nachweises wurden von Remington (1964, 1969) beschrieben: erstens, die Trennung der Antikörperfraktionen durch chromatographische und elektrophoretische Methoden (Sephadex-Säule G-200), und zweitens der getrennte Nachweis von 7 S und 19 S Antikörpern durch den indirekten Fluoreszenztest. Hier eröffnen sich einige Aufgabengebiete. Es sollte geprüft werden, welche Immunglobulinfraktionen bei neoplastischen Veränderungen auftreten, um die vermuteten Zusammenhänge zwischen diesen Krankheitsbildern und einer Toxoplasma-Infektion zu bestätigen oder zu entkräften.

5. Zusammenfassung

In der Arbeit wird versucht zu klären, ob durch ein Tumorstadium bei latenten Toxoplasma-Infektionen die Antikörper-Titer im Sabin-Feldman-Test erhöht werden.

Die in der Literatur bisher veröffentlichten Berichte über ein Zusammentreffen von Tumoren und Toxoplasma-Infektionen wurden zusammengestellt und verglichen.

In eigenen Versuchen wurden 100 NMRI-Mäuse mit Toxoplasmazysten intraperitoneal infiziert und die Antikörper-Titer mit dem Sabin-Feldman-Test festgehalten. 132 Tage post infectionem wurden 45 Tieren je 1 mg des tumorerzeugenden Methylcholanthrens subcutan injiziert. Fortlaufende serologische Untersuchungen bei den Tieren, die ein Methylcholanthren-Fibrosarkom entwickelt hatten und den Kontrollen zeigten, daß kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Antikörper-Titer-Verlaufskurven besteht.

Die erhöhten Toxoplasma-Antikörper-Titer bei Patienten mit malignen Tumoren konnten tierexperimentell nicht bestätigt werden. Andere Faktoren, die als Ursache für die beobachteten erhöhten Sabin-Feldman-Teste in Frage kommen, werden diskutiert.

6. Literaturverzeichnis

- ABELL, C., P. HOLLAND, and K. LEXINGTON: Acute Toxoplasmosis complicating leukemia. *Amer. J. Dis. Child.* 118, 1969
- ALEXANDER, M., H. MAEDER und D. MÜLLENBROCK: Der Sabin-Feldman-Test bei tierexperimentell erzeugten Tumoren. *Verh. Dt. Gesch. f. Inn. Med.* 74, 660, 1968
- ARDOIN, P., D. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ: Sur l'utilisation du sarcoma T.G.180 pour l'obtention d'une suspension riche en *Toxoplasma gondii* extracellulaires. *C.R. Soc. Biol.* 161, 117, 1967
- BACHMANN, F., G. KEISER und A. C. MARTENET: Die erworbene Erwachsenen-toxoplasmose. *Helvetica medica acta* 29, 74, 1962
- BERNARD, J., M. BOIRON, J. LEVY, J. RIPAUT et G. DESMONTS: Toxoplasmose généralisée, associée à une leucémie aigue. *Nouv. Rev. Franc. Hém.* 11, 910, 1962
- CASTI, E. e U. VISCA: Toxoplasmi linfoghiandolare e linfogranuloma di Hodgkin. *Policlinico. Sez. prat.* 73, 1224, 1966
- CHAUVERGNE, J., C. MEUGE, M. BOISSEAU et B. HOERNI: Lymphoréticulopathie maligne et toxoplasmose. *Ann. Pediat.* 45, 2816, 1969
- CHEEVER, A., M. VALSAMIS, and A. RABSON: Necrotizing toxoplasmic encephalitis and herpetic pneumonia complicating treated Hodgkin's disease. *New Eng. J. Med.* 272, 26, 1965
- CHITROVO-GOREVA, T.: Rôle de la toxoplasmose dans le développement de certains affections. *Biol. Abstr.* 45, 80005, 1964
- COHEN, S. N.: Toxoplasmosis in patients receiving immuno-suppressive therapy. *Jama*, 211, 657, 1970
- FELDMAN, H.: A nationwide serum survey of United States military recruits 1962. *Amer. J. Epidem.* 81, 385, 1965
- FRENKEL, J. K.: Effects of cortisone, total body radiation and nitrogen mustard on chronic latent toxoplasmosis. *Am. J. Path.* 33, 618, 1957
- FRENKEL, J. K., and M. N. LUNDE: Effects of corticosteroids on antibody immunity in Besnoiti infection of hamsters. *J. Inf. Dis.* 116, 414, 1966
- FINCKH, E. S.: Intercurrent infection with *Toxoplasma*: organisms found in the bone marrow of a patient with advanced reticulosarcoma. *Med. J. Aust.* 41, 965, 1954
- GOODMAN, M., and E. MILE: Four uncommon infections in Hodgkin's disease. *Jama*, 198, 1129, 1966
- GRANDJEAN, L. C.: Toxoplasmose og tumor malignus colli. *Nord. Med.* 56, 1421, 1956

- HEMSATH, F., and H. PINKERTON: Disseminated cytomegalic inclusion disease and disseminated toxoplasmosis in an adult with myeloid metaplasia. *Am. J. Clin. Path.* 26, 36, 1956
- HOOFT, C., M. DELBEKE et R. LANNOO: Leucémie et toxoplasmose. *Arch. franc. Pédiat.* 19, 1201, 1962
- HULDT, G.: Experimental toxoplasmosis: effect of corticosteroids on rabbits with varying degree of immunity. *Acta path. micro. scand.* 68, 605, 1966
- IANELLO, J., J. BIONDI y A. KLEIN: Toxoplasmosis y cancer. *Orientación méd.* 15, 113, 1966
- JANITSCHKE, K.: Die Bedeutung von Tieren als Infektionsquelle des Menschen mit Toxoplasmen. *Dt. Med. Wschr.* 2, 78, 1971
- JELLEN, S.: Med. Diss. FU Berlin - in Vorbereitung
- KEEL, H., W. ROTH, G. KEISER, F. REUTTER und G. MARTZ: Über das Zusammen treffen von Morbus Hodgkin und Toxoplasmose. *Schweiz. Med. Wschr.* 93, 1465, 1963
- KESSEL, H., W. LEWIS, and L. JACOBS: Toxoplasmosis in southern California and Polynesia. *Hawaii Med. J.* 25, 141, 1965
- LELONG, M., J. BERNARD, G. DESMONT et J. COUVREUR: La Toxoplasmose acquise. *Arch. franc. Pédiat.* 17, 281, 1960
- LEMAIRE, A., G. BOUDIN, A. LAURAS, J. DEBRAY et G. LYON: Toxoplasmose cérébrale découverte à l'examen anatomique d'une leucémie myéloïde compliquée de troubles psychique. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 113, 1102, 1962
- LEMAIRE, A., J. DEBRAY, P. BLANCHON et J. GOUKIM: Aspects ganglionnaires et sanguins de la Toxoplasmose acquise de l'adulte. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 116, 335, 1965
- MAEDER, H.-U.: Tierexperimente zur Klärung der Frage, ob bei Tumoren unspezifische Erhöhungen des Sabin-Feldman-Testes vorkommen. *Med. Diss. FU Berlin*, 1968
- MARIONI, F. e G. LAZZARO: Su un caso di toxoplasmosi umana in soggetto con reticulosarcoma. *Parassitologia* 2, 221, 1960
- MATTHES, S.: Med. Diss. FU Berlin - in Vorbereitung
- MÜLLENBROCK, D.: Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen über den Sabin-Feldman-Test bei Hämoblastosen und Tumoren. *Med. Diss. FU Berlin*, 1969
- PIEKARSKI, G.: Zur Deutung der Ergebnisse immunbiologischer Methoden bei der Toxoplasmose. *Toxoplasmose-Praktische Fragen und Ergebnisse*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1966

- PIZZI, T., and M. DIAZ: Invasion of mouse ascites tumor cells by developmental stages of *Toxoplasma gondii*. *Bol. Chil. Parasit.* 18, 73, 1963
- PUTZMANN, L.: Med. Diss. FU Berlin - in Vorbereitung
- REMYINGTON, J. S.: The present status of the IgM fluorescent antibody technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J. Pediat.* 75, 1116, 1969
- Toxoplasmosis: Recent Developments. *Ann. Rev. Med.* 21, 201, 1970
- REMYINGTON, J. S., and E. N. CAVANAUGH: Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *New Eng. J. Med.* 273, 1308, 1965
- REMYINGTON, J. S., and M. J. MILLER: 19 S and 7 S anti-*Toxoplasma*-antibodies in diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. *Proc. Soc. exp. Biol.* 121, 357, 1966
- REYNOLDS, E., K. WALLS, and R. PFEIFFER: Generalised toxoplasmosis following renal transplantation: Report of a case. *Arch. Int. Med.* 118, 401, 1966
- SCHUMAN, L., N. CHOI, and W. GULLEN: Relationship of central nervous system neoplasms to *Toxoplasma gondii* infection. *Am. J. publ. Heth.* 57, 848, 1967
- SIIM, J.: Toxoplasmosis acquista lymphonodosa: Clinical and pathological aspects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64, 185, 1965
- STACHER, A.: Diskussion bei H. Keel u. Mitarb., 1963
- STAHL, W., and H. MATSUBAVASHI: Modification of subclinical toxoplasmosis in mice by cortison, 6-mercaptopurine and splenectomy. *Am. J. Trop. Med.* 15, 869, 1966
- STAIB, F., H. SEELINGER und J. CURA: Orientierende Untersuchungen zur Bildung 2-Mercaptoäthanol-empfindlicher und -resistenter Antikörper bei der experimentellen *Toxoplasma*-Infektion. *Z. Med. Mikrobiol. Immunol.* 153, 20, 1966
- STAIB, F., H. SEELINGER und R. HANDWERKER: Orientierende Untersuchungen über das Vorkommen 2-Mercaptoäthanol-empfindlicher und -resistenter Toxoplasma-Antikörper beim Menschen. II. Mitteilung, *Z. Med. Mikrobiol. Immunol.* 151, 344, 1969
- STRANNEGARD, Ö.: The formation of *Toxoplasma* antibodies in rabbits. *Acta path. Microbiol. Scand.* 71, 439, 1967
- THEOLOGIDES, A., K. OSTERBERG, and B. KENNEDY: Cerebral toxoplasmosis in multiple myeloma. *Ann. Int. Med.* 64, 1071, 1966
- VERMEIL, C., O. MORIN et M. BOUC: Contribution à l'étude expérimentale des relations toxoplasme - cancer. *Bull. Soc. Path. Exot.* 62, 516, 1969

- VIETZKE, W., A. GELDERMAN, P. GRIMLEY, and M. VALSAMIS: Toxoplasmosis complicating malignancy. *Cancer*, 21, 816, 1968
- VOGEL, C., and M. LUNDE: Toxoplasma serology in patients with malignant diseases of the reticuloendothelial system. *Cancer*, 23, 614, 1969
- WEBER, E.: Grundriß der Biologischen Statistik, VEB G. Fischer Verlag Jena, 1956
- WEGMANN, T.: Diskussion bei H. Keel u. Mitarb., 1963
- WERNER, H. und H. PICHL: Vergleichende Untersuchungen an zystenbildenden Toxoplasma-Stämmen. II. Mitteilung: Zystenentwicklung und humorale Antikörperbildung. *Bl. Bakt. Abt. I. Orig.* 210, 402, 1969
- WERTLAKE, P., and T. WINTER: Fatal Toxoplasma myocarditis in an adult with acute lymphocytic leukemia. *New Eng. J. Med.* 273, 438, 1965
- WOLF, A., M. KAUFMAN, and D. COWEN: Adult toxoplasmosis. *Trans. Am. Neurol. Ass.* 78, 284, 1953
- ZAMAN, V.: Growth of Toxoplasma gondii in sarcoma 180 mouse ascites tumor cells. *Med. J. Malaya*, 22, 195, 1968

Frau Professor Dr. med. M. Alexander danke ich für die Überlassung des Themas und die mir zuteil gewordene Unterstützung.

Ferner danke ich für wissenschaftlichen Rat und Hilfsbereitschaft:

Herrn Dr. vet. K. Janitschke, Robert-Koch-Institut,
Herrn Dipl.-Phys. Dr. H. Pichl, Robert-Koch-Institut,
Frl. R. Dannemann, Biochemikerin und Pharmazeutin im
Robert-Koch-Institut,

Herrn Professor Dr. med. V. Becker, Direktor des
Path. Inst. des Klinikums Westend der FU Berlin.

Lebenslauf

Am 28. August 1945 wurde ich als viertes Kind des Technischen Angestellten Erich Pein und seiner Ehefrau Elise geb. Krüger in Berlin geboren.

Nach meinem Schulantritt 1952 besuchte ich von 1958 bis 1965 den neusprachlichen Zweig der Gabriele-von-Bülow-Schule in Berlin-Tegel, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte.

Im Frühjahr 1965 trat ich als Finanzanwärter (Zoll) der Berliner Zollverwaltung bei. Ich beendete jedoch das Dienstverhältnis zum Jahresende, da ich inzwischen erkannt hatte, daß meine Interessen vorwiegend auf medizinischem Gebiet liegen.

Im Sommersemester 1966 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin, wo ich im März 1967 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1968 die ärztliche Vorprüfung bestand. Die theoretische medizinische Ausbildung beendete ich am 19.2.1972 mit dem Staatsexamen.

